



Die Entdeckung des Tuberkulose-Bazillus durch Robert Koch 1882 (siehe auch BIOMAX 19) war ein Meilenstein im Kampf gegen die Seuche. Aber bei der Suche nach einem wirksamen Heilmittel blieb ihm der Erfolg verwehrt. Tatsächlich musste mehr als ein weiteres halbes Jahrhundert vergehen. Anfang der 1940er-Jahre wurde Selman Waksman, Direktor des Instituts für Mikrobiologie an der Rutgers University in New Jersey, USA,

entdeckte, dass er durch das Antibiotikum nur wenig geschädigt werden kann. Die Entdeckung und Anwendung von Antibiotika sind ein Meilenstein in der Medizingeschichte. Sie zählen heute zu den weltweit am häufigsten verschriebenen Medikamenten. Im Labor von Selman Waksman wurden neben Streptomycin eine ganze Reihe weiterer Antibiotika entdeckt, u.a. Actinomycin, Cla-

Auf der Baustelle des Lebens – wie die Proteinfabriken der Zelle funktionieren

von einem Farmer aufgesucht, dessen Hühner an einer Infektion litten, ausgelöst offenbar durch kontaminierte Erde. Waksman untersuchte die mitgebrachten Bodenproben und stellte fest, dass sich in diesen eine Substanz mit keimtötenden Eigenschaften befand. Im Oktober 1943 gelang es ihm und seinen Mitarbeitern Albert Schatz und Elizabeth Bugie, aus dem Bodenbakterium *Streptomyces griseus* den Wirkstoff Streptomycin zu isolieren – das erste Antibiotikum gegen Tuberkulose!

EIN MEILENSTEIN IN DER MEDIZIN

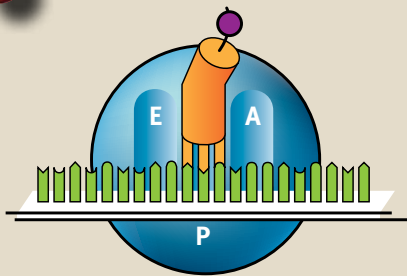
Antibiotika (altgriech. $\alpha\nu\tau\iota$ - „anstelle, gegen“ und $\beta\iota\omicron\varsigma$ „Leben“) sind eigentlich natürliche von Pilzen oder Bakterien stammende Stoffwechselprodukte, die schon in geringer Konzentration das Wachstum anderer Mikroorganismen hemmen oder diese abtöten. Sie werden von ihren Produzenten bei ungünstigen Umweltbedingungen ausgeschieden, um Nahrungskonkurrenten auszuschalten und damit die eigenen Überlebenschancen zu verbessern. Der Produzent ist in vielen Fällen spezifisch resistent gegen das von ihm selbst erzeugte Antibio-

vacin, Streptothricin, Grisein, Neomycin, Fradycin, Candicidin und Candidin. Für diese Arbeiten auf dem Gebiet der Antibiotika-Forschung wurde der Amerikaner 1952 mit dem Nobelpreis für Medizin ausgezeichnet.

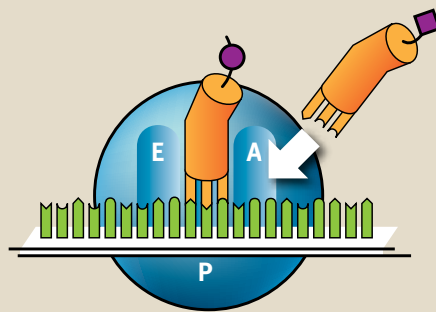
Um Wirkung zu erzielen, muss das Antibiotikum ein zentrales Element im Stoffwechsel des zu attackierenden Organismus angreifen können. Je universeller der Aufbau dieser Zielstruktur ist, desto breitbandiger wirkt das Antibiotikum. So hemmen einige Substanzen die Zellwandsynthese von Bakterien, andere die DNA-Replikation oder aber die Proteinbiosynthese. Penicillin beispielsweise unterbindet den Aufbau der Zellwand, indem es jene Enzyme (Transpeptidasen) →

▼ Die Aminosäurenkette (gelb) verlässt das Ribosom (blau) und wird durch einen Faltungshelfer, das Chaperon (rot), von einer zweidimensionalen Kette in eine dreidimensionale Struktur gefaltet.

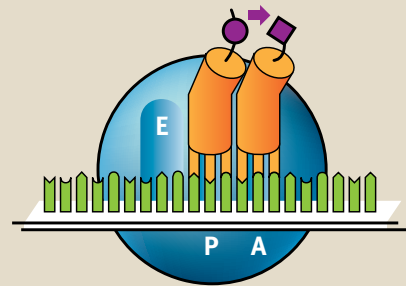


B

Schritt 1: Das Ribosom bringt die mRNA und eine freie tRNA, die eine Aminosäure trägt, so zusammen, dass sich ein mRNA-Codon mit dem komplementären Anticodon der tRNA zusammenlagern kann.



Schritt 2: Eine zweite ebenfalls mit einer Aminosäure beladene tRNA setzt sich neben der ersten tRNA an die mRNA.



Schritt 3: Die beiden an den tRNAs hängenden Aminosäuren werden mit einer Peptidbindung verknüpft.

→ blockiert, die die Polysaccharid-Ketten miteinander verknüpfen, aus denen die bakterielle Zellwand aufgebaut wird. Dadurch zerfällt die Zellwand und die angegriffenen Bakterien werden zerstört. Penicillin wirkt also **bakterizid** (Bakterien abtötend). Rifampicin dagegen heftet sich an RNA-Polymerasen und deaktiviert diese. Da die Enzyme u.a. verantwortlich sind für den Aufbau der Boten-RNA (mRNA), die die Bauanleitung für Proteine tragen, kommt auf diese Weise der Stoffwechsel der angegriffenen Zelle zum Stillstand. Das Antibiotikum wirkt also in erster Linie **bakteriostatisch** – die Bakterien werden an der Vermehrung gehindert, aber nicht abgetötet. Streptomycin wiederum heftet sich an die Ribosomen, die Proteinfabriken in der Zelle. Die Proteinbiosynthese findet zwar nach wie vor statt, es entstehen aber Proteine mit zahlreichen Fehlern, die das Bakterium nur eingeschränkt nutzen kann. Weil darüber hinaus Seiteneffekte zu einer Zerstörung der DNA führen, wirkt das Antibiotikum ebenfalls bakterizid. Trotzdem erwies sich Streptomycin nicht als ideale Waffe gegen Tuberkulose, denn neue Generationen des Tuberkelbazillus entwickelten rasch eine **Resistenz**.

Die Fähigkeit, sich gegen die antimikrobielle Wirkung zu schützen, kann auf einer Veränderung der Zielstrukturen beruhen, an denen das Antibiotikum ansetzt. Streptomycinresistenz war ein prominentes Problem, das Masayasu Nomura, damals an der Universität von Wisconsin (USA), 1969 mit seinen Mitarbeitern lösen konnte: Die Wissenschaftler isolierten Ribosomen aus dem Cytoplasma resistenter und sensibler Zellen, trennten sie in ihre Untereinheiten auf und stellten daraus sogenannte „Hybrid-Ribosomen“ her, deren Empfindlichkeit gegenüber dem Antibiotikum sie dann erneut testeten. Das Ergebnis: Die Resistenz-Eigenschaften wurden

offenbar durch die kleine ribosomale Untereinheit vermittelt. Im nächsten Schritt untersuchten sie Komponente für Komponente der kleinen Untereinheit, indem sie diese jeweils austauschten. Schließlich konnten sie ein verändertes ribosomales Protein als Resistenz-auslösend identifizieren.

DIE ÜBERSETZUNGSMASCHINERIE

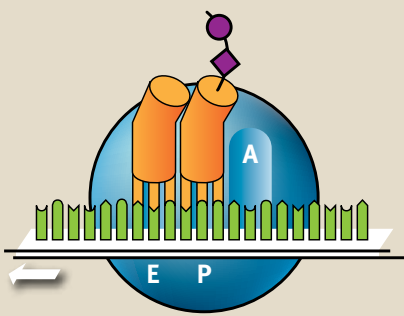
Auf der Suche nach weiteren Komponenten, die eine Antibiotika-Bindung an das Ribosom ermöglichen, bedienten sich Heinz-Günther Wittmann und sein Mitarbeiter Knud Nierhaus am Max-Planck-Institut für molekulare Genetik in Berlin Ende der 1970er-Jahre einer ähnlichen Strategie. Ein ribosomaler Baustein nimmt allerdings im isolierten Zustand nicht dieselbe Konformation ein wie im Ribosom. Möglich also, dass der Baustein im Ribosom eine Bindestelle trägt, die im isolierten Zustand wegen anderer Konformation das Antibiotikum nicht bindet. Der Baustein könnte aber auch dafür verantwortlich sein, dass das Ribosom überhaupt erst eine Konformation einnimmt, in der das Antibiotikum gebunden werden kann. Die eigentliche Bindestelle kann dann auf einem ganz anderen Baustein liegen. „Solange keine hoch auflösenden Strukturanalysen vorlagen, konnten wir diese Fälle nicht unterscheiden“, erzählt Knud Nierhaus – doch für eine Röntgenstrukturanalyse mussten die Makromoleküle erst einmal kristallisiert werden.

Dabei waren **Ribosomen** schon 1953 beschrieben und kurz darauf auch aus dem Plasma eukaryotischer und prokaryotischer Zellen isoliert worden. Es zeigte sich, dass man prinzipiell zwei Typen von Ribosomen unterscheiden kann: den eukaryotischen 80S-Typ und den prokaryotischen 70S-Typ (wobei S, die Svedberg-Konstante, ein Maß für das Sedimentationsverhalten und damit die Größe ist). Ribosomen sind asymmetrisch

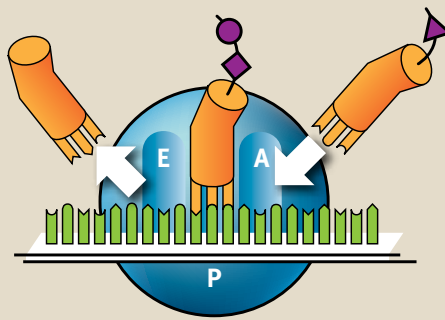
aufgebaut: Sie bestehen aus einer kleinen und einer großen Untereinheit. Während die 80S-Ribosomen der Eukaryoten aus einer 40S- und 60S-Untereinheit zusammengesetzt sind, bestehen die 70S-Ribosomen aus einer 30S- und einer doppelt so schweren 50S-Untereinheit. Mehr als 50 verschiedene Proteine (ribosomale Proteine) und drei bis vier längere RNA-Fäden (ribosomale RNA, kurz: rRNA) sind am Aufbau der beiden Untereinheiten beteiligt.

Das Ribosom ist die „Übersetzungsmaschine“ von der genetischen Bauanleitung in Form eines mRNA-Transkripts in die Aminosäuresequenz eines Proteins. Ein „RNA-Wort“ aus drei Nucleotiden (wobei die RNA neben Adenin, Cytosin und Guanin im Unterschied zur DNA das Nucleotid Uridin statt Thymin enthält) legt dabei eine bestimmte Aminosäure in der Sequenz des zu synthetisierenden Proteins fest. Sobald dieses Nucleotidtriplekt, Codon genannt, in das aktive Zentrum des Ribosoms gelangt, koppelt es dort an die komplementäre Sequenz – das Anticodon – einer **Transfer-RNA** (tRNA), die in ihrem Gepäck die entsprechende Aminosäure trägt. Aufgrund unterschiedlicher Erkennungssignale und Kontrollmechanismen am 5'-Ende, „vor“ jenem Teil der **Boten-RNA**, der die eigentliche Proteininformation trägt, kann eine aus Bakterien stammende mRNA an den Ribosomen von Eukaryoten allerdings nicht „übersetzt“ werden. Umgekehrt funktioniert es ebenso wenig – „es sei denn, man setzt z.B. die bakteriellen Erkennungssignale vor die eukaryotische Boten-RNA, was heute schon zur Proteingewinnung in industriellem Maßstab gemacht wird“, erklärt Nierhaus.

Im Cytoplasma einer Zelle liegen die beiden Untereinheiten getrennt vor. Um mit der Synthese eines Proteins zu beginnen (**Abb. B**),



Schritt 4: Jetzt werden die tRNAs um eine Codonlänge im Ribosom verschoben. Dabei wandern sie von der A- in die P- und von der P- in die E-Stelle und ziehen die mRNA mit sich (Pfeil).



Schritt 5: Die Bindung einer neuen tRNA an die freie A-Stelle erfolgt zeitgleich mit der Ablösung von der E-Bindungsstelle, d.h. während der Proteinsynthese befinden sich mindestens immer zwei tRNAs auf dem Ribosom.

◀ Die A- und P-Bindestellen am Ribosom waren seit Ende der sechziger Jahre bekannt. 1980 entdeckten Knud Nierhaus und seine Mitarbeiter dann eine dritte, ebenfalls universell vorhandene Bindungsstelle: die E-Stelle (E für Exit). Ihre Funktion war lange umstritten. 2004 konnten die Max-Planck-Forscher den Nachweis erbringen, dass die E-Stelle unverzichtbar ist für das Einhalten des Leserasters: Wird die tRNA aus der E-Stelle nämlich vorzeitig aus dem Ribosom entfernt, so dass die mRNA nur noch über ein Anticodon gebunden ist, kommt es häufiger zum „frame shift“ und damit zum Verlust des Leserasters. Wird die mRNA dagegen immer über zwei Anticodone verankert, verliert das Ribosom weniger als einmal bei 30.000 Übersetzungsschritten spontan den Leserahmen.

lagert sich zunächst die kleine Untereinheit an ein Molekül Boten-RNA. Sie enthält das Dekodierungszentrum und ist für die Übersetzung des genetischen Codes verantwortlich: Die kleine Untereinheit stellt den Rahmen zur Verfügung, in dem Codon und Anticodon aufeinander abgestimmt werden. Ist das Startsignal und das richtige Leseraster gefunden, kommt die große Untereinheit dazu, die die Bildung der Peptidbindung katalysiert und damit die Peptidkette wieder und wieder um jede neu hinzugekommene Aminosäure verlängert. Innerhalb von einer Sekunde können bakterielle Ribosomen etwa 20 Aminosäuren zu einer Peptidkette verknüpfen. Dabei muss die Boten-RNA nach jedem Verlängerungsschritt um exakt ein Codon verschoben werden. Denn genau wie der Satz „die-kuh-kam-auf-die-alm“ durch Verschiebung um einen Buchstaben zu dem sinnlosen „die-kuhk-ama-ufd-iea-lm“ wird,

verliert auch die Information in der mRNA ihre Bedeutung, wenn das Leseraster um eine Nukleotidstelle verschoben wird. Das Prinzip dieses als **Translation** bezeichneten Vorgangs klingt einfach, aber die Mechanistik, die dahintersteckt, blieb lange rätselhaft.

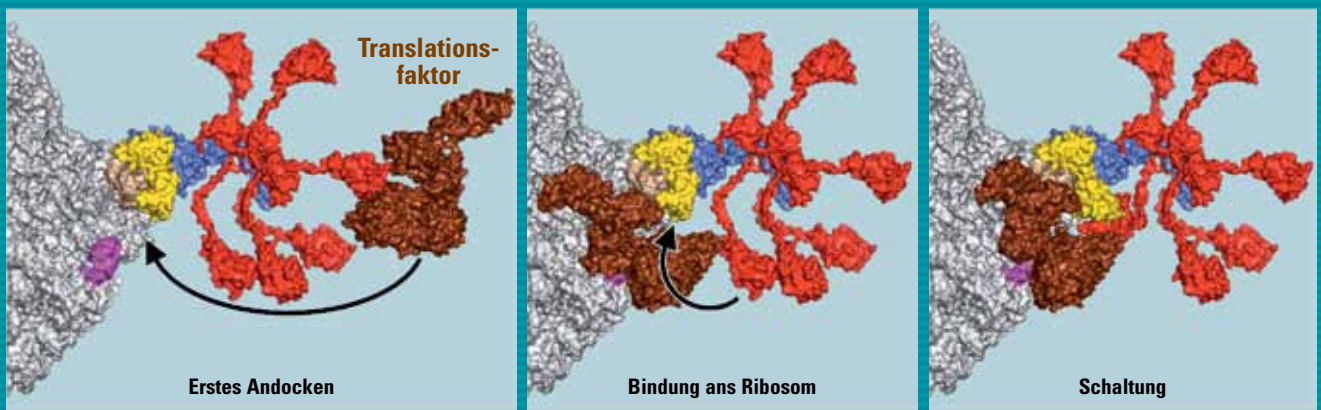
FORSCHER ZÜCHTEN KRISTALLE

Am Weizmann Institut in Rehovot befasste sich die israelische Chemikerin Ada Yonath in den 1970er-Jahren mit **Röntgenkristallografie**. Dabei werden Kristalle mit Röntgenlicht bestrahlt, wobei die in regelmäßigen Abständen angeordneten Atome des Kristalls die Strahlung beugen. Aus dem Beugungsmuster lässt sich dann die Position der Atome zurückrechnen. Yonath wollte diese Methode auf Ribosomen anwenden. Ist der Einsatz der Röntgenkristallografie bei gleichmäßig aufgebauten Strukturen, wie zum Beispiel DNA, noch recht problemlos, so wird er

bei komplexen Proteinen schon sehr knifflig. Um die hoch komplizierte und aufwändige Röntgenkristallografie bei einem so riesigen und labyrinthischen Komplex wie dem Ribosom einzusetzen, mussten aber noch ganz andere Hürden überwunden werden.

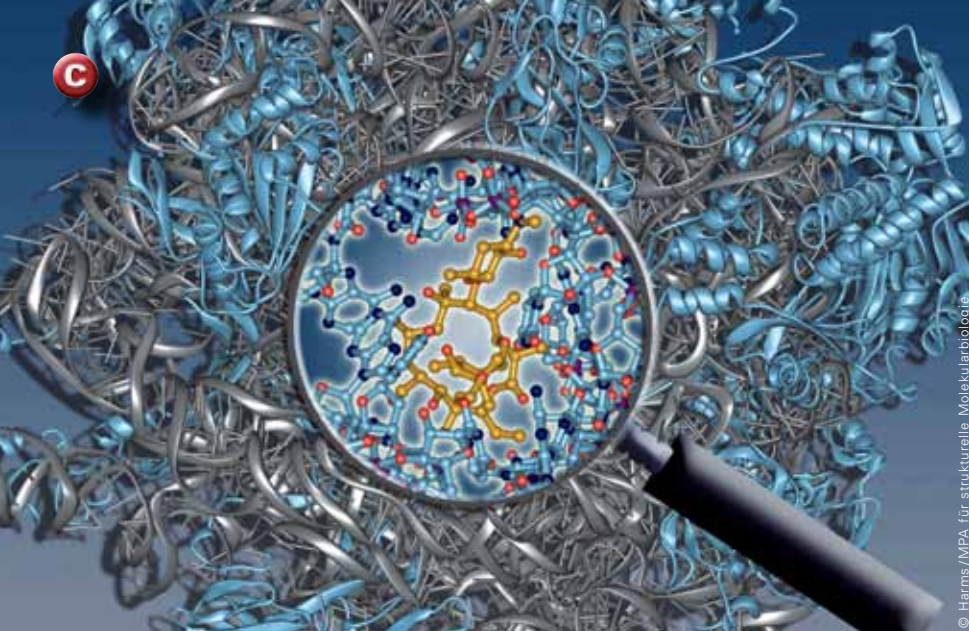
Die junge Israelin ging zunächst nach Berlin, in das Mekka der Ribosomenforschung, um als Gastwissenschaftlerin in Wittmanns Abteilung Ribosomenkristalle zu züchten. Doch die Kristalle erwiesen sich nicht als stabil genug – mit intensivem Röntgenlicht bestrahlt, waren sie in kürzester Zeit zerstört. Daraufhin wählte die Forscherin Ribosomen eines aus einer japanischen Heißquelle stammenden Bakteriums. Ihre Überlegung: Wer Temperaturen von bis zu 75 Grad Celsius übersteht, dessen Ribosomen sollten wesentlich stabiler sein. Darüber hinaus kühlte sie ihre Experimente mit flüssigem Stickstoff →

DIE KLEINSTE ANGELRUTE DER WELT



Die Kontrolle der verschiedenen Arbeitsschritte im Translationsprozess übernehmen molekulare Schalter, Translationsfaktoren genannt. Mit einer Struktur, die einer Angelrute mit sechs Schnüren und je einem Köder ähnelt (rot), „fischt“ das Ribosom (grau) nach einem solchen Translationsfaktor (braun), wie Forscher um

Markus Wahl vom Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie in Göttingen 2005 herausfanden. Der Faktor kann nun an die zentrale Maschinerie andocken und gibt durch eine chemisch ausgelöste Formveränderung den Startschuss für den nächsten Arbeitsschritt im Translationsprozess.



© Harms/MPA für strukturelle Molekularbiologie

▲ **Blick mit der Lupe in den durch das Antibiotikum Erythromycin versperrten ribosomalen Tunnel. Gezeigt ist ein Modell der 50S-Untereinheit von *Deinococcus radiodurans* mit der rRNA in Grau und den ribosomalen Proteinen in Hellblau. In der Lupe ist die RNA als „ball and stick“-Modell dargestellt, hellblau mit roten und blauen Kugeln; das Antibiotikum ist in orange dargestellt.**

→ auf Temperaturen um minus 180 Grad Celsius, denn je niedriger die Umgebungstemperatur der Partikel ist, desto länger bleiben sie intakt. Und sie hatte Erfolg: 1980 gelang es Yonath tatsächlich, die ersten Kristalle der großen Untereinheit eines Ribosoms aus dem Bakterium *Bacillus stearothermophilus* herzustellen. Doch bis das Ribosom Atom für Atom enträtselt war, sollten noch weitere 20 Jahre vergehen.

WETTlauf UM DIE ERSTAUFNAHME

1995 entwickelte Ada Yonath – mittlerweile Leiterin einer Max-Planck-Arbeitsgruppe „Ribosomenstruktur“ am Teilchenbeschleuniger DESY in Hamburg – eine Methode, mit der die Messdaten erst wirklich lesbar wurden: Sie markierte bestimmte Stellen an der ribosomalen Untereinheit mit Iridium- bzw. Quecksilberverbindungen. Diese ragten nun wie kleine Fähnchen aus der ribosomalen Elektronendichtekarte heraus und erlaubten überhaupt erst, sich in der „Datensuppe“ zu orientieren und die genaue Lage einzelner Funktionseinheiten innerhalb des Ribosoms zu bestimmen. Auf diesen entscheidenden Schritt folgten dann die ersten wirklich hochauflösenden Aufnahmen vom Ribosom: 1999 präsentierte der US-Amerikaner Thomas Steitz von der Yale University in New Haven die 50S-Untereinheit eines Ribosoms aus dem salztoleranten Archaeobakterium *Haloarcula marismortui* mit einer Auflösung von fünf Ångström (ein Ångström entspricht einem Zehnmillionstel Millimeter), während die Arbeitsgruppen von Ada Yonath in Hamburg und des in Indien geborenen US-Forschers

schers Venkatraman Ramakrishnan – der zu diesem Zeitpunkt an der University of Utah in Salt Lake City arbeitete – unabhängig voneinander und fast zeitgleich die Struktur der 30S-Untereinheit eines Ribosoms von *Thermus thermophilus* lösen konnten. Für diese bahnbrechenden Arbeiten wurden die drei Forscher im Oktober 2009 gemeinsam mit dem Nobelpreis für Chemie ausgezeichnet.

Die Strukturaufklärungen ermöglichten die erhofften Einblicke in die Funktion der Übersetzungsmaschine – und in die Wirkungsweise von Antibiotika. So deckte Venkatraman Ramakrishnan bei seinen Untersuchungen einen bisher unbekanntes Fehlerkorrekturmechanismus der Ribosomen auf: Ein „molekulares Lineal“ misst den Abstand zwischen den Basen der Boten-RNA und der gepaarten Transfer-RNA. Hat sich ein falscher Transporteur eingeschlichen, stimmt sein Abstand nicht, und er wird wieder entfernt. Genau diese Kontrollfunktion wird durch das eingangs erwähnte Streptomycin gestört. Streptomycin bindet nämlich an die rRNA der 30S-Untereinheit und verändert dadurch die Abläufe im Dekodierungszentrum. Das Resultat: Es kommt zu Fehlpaarungen, weil das Ribosom nicht mehr zwischen richtigen und falschen Aminosäuren unterscheiden kann; das entstehende Protein funktioniert, wenn überhaupt, nur eingeschränkt.

Makrolid-Antibiotika wie Erythromycin dagegen binden an die 50S-Untereinheit des Ribosoms. Kristallografische Untersuchungen der 50S-Untereinheit im Komplex mit Eryth-

romycin haben gezeigt, dass das Antibiotikum den etwa 100 Ångström langen und 15 Ångström breiten Tunnel blockiert (Abb. C), der fast die gesamte 50S-Untereinheit durchläuft und durch den alle Proteine hindurchgefädelt werden. Der Tunnel schützt die wachsende Peptidkette vor dem Abbau durch Enzyme. Erythromycin schmälert den Durchlass auf ein Drittel, sodass die Proteinbiosynthese nach wenigen Zyklen zum Erliegen kommt. Wie im Fall von Streptomycin kann auch bei Erythromycin die Resistenz durch ein verändertes ribosomales Protein bzw. eine veränderte rRNA verursacht werden.

RESISTENZEN – EIN RISIKO

Die weite Verbreitung von Antibiotika (insbesondere in der Massentierhaltung) und ihr falscher Einsatz (z.B. bei viralen Erkrankungen) befördern die Ausbildung von Resistenzen. So belegen mehrere Studien, dass die Menge an verordneten Antibiotika stark mit den entstehenden Resistenzen korreliert. Das Problem ist inzwischen so drängend, dass die Weltgesundheitsorganisation (WHO) von einer weltweiten Gesundheitskrise spricht. Dabei war man in der zweiten Hälfte des vergangenen Jahrhunderts – nachdem in den 1950er- und 1960er-Jahren fast alle heute bekannten Antibiotika-Gruppen gefunden worden waren – der euphorischen Meinung, dass „das Buch der Infektionskrankheiten geschlossen werden kann“, wie der Leiter der US-Gesundheitsbehörde William McFarlane 1969 formulierte. Die Arbeiten zur Strukturaufklärung aus den Labors der Grundlagenforscher ermöglichen es, gezielt Wirkstoffe gegen bakterielle Ribosomen zu entwickeln. „Sie haben direkt dazu beigetragen, Leben zu retten und menschliches Leid zu lindern“, lautete deshalb auch die Begründung der Königlich-Schwedischen Akademie der Wissenschaften in Stockholm zur Vergabe des Chemie-Nobelpreises 2009.

Schlagwörter: Antibiotika, bakterizid, bakteriostatisch, Resistenz, Ribosom, Transfer-RNA, Boten-RNA, Translation, Röntgenkristallografie

Link-Tipps: www.spektrum.de/news/die-uebersetzungsmaschine/1010110
www.riboworld.com

WWW.MAXWISSEN.DE

– der Link zur Forschung für Schüler und Lehrer

Hier finden Sie Hintergrundinformationen und didaktisches Material zu den jeweils zweimal im Jahr erscheinenden Ausgaben von BIOMAX, GEOMAX und TECHMAX. Weitere Exemplare können Sie kostenlos bestellen bei: